

(9) 日本国特許庁 (JP) (11) 特許出願公開
 (12) 公開特許公報 (A) 昭61-53298

(5) Int.Cl.⁶
 C 07 K 5/08
 A 61 K 37/02

識別記号 ABU 厅内整理番号
 6464-4H
 7138-4C

(13) 公開 昭和61年(1986)3月17日

審査請求 未請求 発明の数 2 (全17頁)

(14) 発明の名称 アミノ酸誘導体およびこれを含有する降圧剤

(15) 特願 昭59-176355

(16) 出願 昭59(1984)8月24日

(17) 発明者 江口 新比古 横浜市戸塚区上郷町2136-10
 (18) 発明者 倉内 雅彦 習志野市谷津5-10-36
 (19) 発明者 橋原 俊平 吹田市藤白台2-23-3
 (20) 出願人 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目5番8号

明細書

1. 発明の名称

アミノ酸誘導体およびこれを含有する降圧剤

2. 特許請求の範囲

(1) 一般式



で示されるアミノ酸誘導体。式中、

Xは、水素原子、R-基又はRCO-基を、

Yは、水素原子、R-基、RCO-基、RCS-基、RSO₂-基、ROSO₂-基、ROCO-基、RSCO-基、ROCS-基、RSCS-基、RNHC(O)-基、RR'NCO-基、RNHC(S)-基、RR'NCS-基、RC(NR')-基、RC(NNH₂)-基、RC(NNOH)-基、RNH-基、RR'N-基、RO-基、RS-基、NC-基、RNHSO₂-基又はO₂N-基を、

Zは、HO-基、RO-基、RS-基、RNH-基、HONH-基、RONH-基、RSO₂NH-基、RCO NH-基又はRCSNH-基を、それぞれ表し、上記各基のR、R'は置換基を有し又は有しないアルキル基、アリール基又はアラルキル基を示し、XとYとは同一又は異なっていて、互いに架橋してもよく、また、RCO-で示されるアシル基はアミノ酸残基を含んでいてもよい。

ただし、式中ZがHO-基、p-ニトロベンジルオキシ基、ベンジルオキシ基またはベンタクロロフェニルオキシ基、Xが水素原子、かつYがヒープチルオキシカルボニル基である誘導体、およびZがベンジルオキシ基、Xが水素原子、かつYがベンジルオキシカルボニル基である誘導体を除く。

(2) 構成アミノ酸の少なくとも一つがL-体である特許請求の範囲第1項記載のアミノ酸誘導体。

(3) 一般式中、X、YおよびZにおけるR、R'が置換基を有しまたは有しない複素環を含むアル

キル基、アリール基またはアラルキル基である特許請求の範囲第1項記載のアミノ酸誘導体。

(4) 塩の形態にある特許請求の範囲第1項乃至第3項何れか記載のアミノ酸誘導体。

(5) 一般式中、X、YおよびZにおけるR、R'が置換基を有したまたは有しない炭素数1~6の低級アルキル基、炭素数6~12のアリール基、炭素数6~12のアラルキル基を表すものである特許請求の範囲第1項記載のアミノ酸誘導体。

(6) 一般式中、X、YおよびZにおけるR、R'が置換基を有したまたは有しない炭素数1~12の複素環を含むアルキル基、アリール基またはアラルキル基である特許請求の範囲第1項記載のアミノ酸誘導体。

(7) 一般式中、XおよびYにおけるR、R'が互に架橋しているとき、R-R'が置換基を有したまたは有しない炭素数1~12のアルカンジイル基または複素環を含むまたは含まない炭素数1~12のアレーンジイル基である特許請求の範囲第1項記載のアミノ酸誘導体。

なる群より選択された有機基を表わすものである特許請求の範囲第1項記載のアミノ酸誘導体。

(10) 一般式中、XおよびYにおけるR、R'が互に架橋しているとき、R-R'がメチレン基、エチレン基、プロパンジイル基、ブタンジイル基、ペンタンジイル基、シクロペニンジイル基、シクロヘキサンジイル基、フェニレン基、ナフタレンジイル基、フランジイル基、ヒリジンジイル基、イミダゾールジイル基、インドールジイル基よりなる群より選択された有機基を表わすものである特許請求の範囲第1項記載のアミノ酸誘導体。

(11) 一般式中、XまたはYがRCO-で示されるアシル基であるとき、RCO-がグリシル、アラニル、バリル、ロイシル、イソロイシル、フェニルアラニル、メチオニル、プロリル、セリル、スレオニル、アルギニル、リジル、ヒスチジル、グルタミル、アスパルチル、グルタミニル、アスパラギニル、チロシル、システイニル、トリプトフィル、ピログルタミル、ヒドロキシプロリルよりなる群より選択されたアミノ酸残基を表わすもので

(8) 一般式中、X、YおよびZにおけるR、R'がメチル基、エチル基、n-ブロピル基、n-ブチル基、t-ブチル基、フェニル基、ナフチル基、p-トリル基、ビフェニル基、ベンジル基、フェニル基、フェニルプロピル基、カルボキシメチル基、カルボキシエチル基、アミノメチル基、アミノエチル基、ヒドロキシメチル基、ヒドロキシエチル基、メルカブトメチル基、メルカブトエチル基、アミノフェニル基、アミノベンジル基、ヒドロキシフェニル基、ヒドロキシベンジル基、メルカブトフェニル基、メルカブトベンジル基、シクロペニル基、シクロヘキシリ基よりなる群より選択された有機基を表すものである特許請求の範囲第1項記載のアミノ酸誘導体。

(9) 一般式中、X、YおよびZにおけるR、R'がフリル基、チエニル基、ビロリル基、ヒリジル基、キノリル基、チアゾリル基、イミダゾリル基、イントリル基、カルバゾリル基、ブリニル基、フルフリル基、テニル基、ヒリジルメチル基、インドリニル基、ピロジニル基、ピペラジニル基より

ある特許請求の範囲第1項記載のアミノ酸誘導体。

(12) 構成アミノ酸がすべてL体である特許請求の範囲第1項記載のアミノ酸誘導体。

(13) 塩がナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩、カルシウム塩、アンモニウム塩、ジシクロヘキシリアミン塩、N-メチル-D-グルカミン塩および塩基性アミノ酸塩によりなる群より選択された塩である特許請求の範囲第4項記載のアミノ酸誘導体。

(14) 一般式



で示されるアミノ酸誘導体を含有する降圧剤。式中、

Xは、水素原子、R-基又はRCO-基を、

Yは、水素原子、R-基、RCO-基、RCS-基、RSO₂-基、ROSO₂-基、ROCO-基、RSCO-基、ROCS-基、RSCS-基、

R NHCO-基、RR' NCO-基、RNHC_S-基、RR' NCS-基、RC(NR')-基、RC(NNH₂)-基、RC(NNOH)-基、RNH-基、RR' N-基、RO-基、RS-基、NC-基、RNHSO₂-基又はO₂N-基を、

Zは、HO-基、RO-基、RS-基、RNH-基、HONH-基、RONH-基、RSO₂NH-基、RCO NH-基又はRCSNH-基を、

それぞれ表し、上記各基のR、R'は置換基を有し又は有しないアルキル基、アリール基又はアラルキル基を示し、XとYとは同一又は異なっていて、互いに架橋してもよく、また、RCO-で示されるアシル基はアミノ酸残基を含んでいてもよい。

(15) アミノ酸誘導体の構成アミノ酸の少なくとも一つがレーティーである特許請求の範囲第14項記載の降圧剤。

(16) アミノ酸誘導体の一般式中X、YおよびZにおけるR、R'が置換基を有しまたは有しない複素環を含むアルキル基、アリール基またはアラ

についての報告は全くなされていない。

参考文献

- (1):1) R.S.Rapaka,D.E.Nitecki,R.S.Bhatnagar
Polym:Pret,Am.Chem.Soc,Dir.Polym.
Chem.16 492 (1975) CA 87 118055w
- 2) R.S.Rapaka,R.S.Bhatnagar,Int.J.Pept.
Protein Res.8 371 (1976) CA 85
193100u
- 3) R.S.Rapaka,R.S.Bhatnagar,D.E.Nitecki
Biopolymers 15 317 (1976) CA 84
108063x
- 4) R.Vegners,G.Cipens,I.Dipans,
Khim.Prip.Soedin 9 763 (1973) CA 81
152625t
- 5) Y.A.Orchinnikov,V.T.Ivanov,
A.I.Hiroshniko,K.K.Khalilulina,
N.N.Uvarova,Khim.Prip.Soedin 7 469
(1971) CA 75 141154p
- (2): V.A.Shibnev,A.V.Lazareva,M.P.Finogenov
Izv.Akad.Nauk SSSR,Ser.Khim 1969 392

ルキル基である特許請求の範囲第14項記載の降圧剤。

(17) アミノ酸誘導体が医薬的に許容し得る塩の形態にある特許請求の範囲第14項乃至第16項の何れか記載の降圧剤。

(18) アミノ酸誘導体を利尿剤とともに含有する特許請求の範囲第14項乃至第17項の何れか記載の降圧剤。

3. 明細の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、新規アミノ酸誘導体およびこれを含有する降圧剤に関する。

従来の技術

本発明におけるようなアラニループロリープロリン誘導体は、t-アーチカルオキシカルボニル-アラニループロリープロリン(1)およびベンジルオキシカルボニル-アラニループロリープロリン(2)を除いて新規化合物である。また、これら2種類のN-置換基もペプチド合成時における保護基として利用されているもので、降圧活性に

CA 70 115551t

明細の構成

本発明者らは観察研究の結果、アラニループロリープロリンで特定されるトリペプチドを基本構造とする一般式



で示されるアミノ酸誘導体が、優れた降圧活性を示し、合成工程も簡便であり、工業的に容易に得られることを見出し、この知見に基づいて本発明を完成するに至った。

上記式中、Xは、水素原子、R-基又はRCO-基を、

Yは、水素原子、R-基、RCO-基、RCS-基、RSO₂-基、ROSO₂-基、ROCO-基、RSCO-基、ROCS-基、RSCS-基、RNHC_O-基、RR' NCO-基、RNHC_S-基、RR' NCS-基、RC(NR')-基、

$RC(NNH_2)$ -基、 $RC(NNOH)$ -基、 RNH -基、 $RR'N$ -基、 RO -基、 RS -基、 NC -基、 RNH_2SO_2 -基又は O_2N -基を、 Z は、 HO -基、 RO -基、 RS -基、 RNH -基、 $HONH$ -基、 $RONH$ -基、 RSO_2N -基、 $RCO NH$ -基又は $RCNSNH$ -基を、それぞれ表す。

X、YおよびZにおけるR、R'は、例えばメチル基、エチル基、n-ブロピル基、n-ブチル基、t-ブチル基、シクロヘンチル基、シクロヘキシル基、カルボキシメチル基、カルボキシエチル基、アミノメチル基、アミノエチル基、ヒドロキシメチル基、ヒドロキシエチル基、メルカブトメチル基、メルカブトエチル基等の置換基を有した有しない炭素数1~6の低級アルキル基、フェニル基、ナフチル基、n-トリル基、ビフェニル基、アミノフェニル基、ヒドロキシフェニル基、メルカブトフェニル基等の置換基を有した有しない炭素数6~12のアリール基、ベンジル基、フェニル基、フェニルプロピル基、アミノベンジル

またXまたはYがRCO-で示されるアシル基である場合、RCO-はグリシル、アラニル、バリル、ロイシル、イソロイシル、フェニルアラニル、メチオニル、プロリル、セリル、スレオニル、アルギニル、リジル、ヒスチジル、グルタミル、アスパルチル、グルタミニル、アスパラギニル、チロシル、システイニル、トリプトフィル、ヒドログルタミル、ヒドロキシプロリル等のアミノ酸残基であってもよい。

このように、本発明アミノ酸誘導体は、広範囲の官能基と置換しても優れた降圧活性を示す点に特徴がある。

本発明のアミノ酸誘導体を構成するアミノ酸はL-体、D-体いずれであってもよい。

本発明のアミノ酸誘導体は、ナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム等の金属塩、有機塩基による塩の形態であってもよい。有機塩基としては、アンモニア(アンモニウム塩)、ジシクロヘキシルアミン、N-メチル-D-グルカミン等のアミンや塩基性アミノ酸例えはリジン、アルギニ

基、ヒドロキシベンジル基、メルカブトベンジル基等の置換基を有した有しない炭素数6~12のアラルキル基、フリル基、チエニル基、ピロリル基、ヒリジル基、キノリル基、チアゾリル基、イミダゾリル基、インドリル基、カルバゾリル基、ブリニル基、フルフリル基、テニル基、ヒリジルメチル基、インドリニル基、ヒロジニル基、ビペラジニル基等の置換基を有した有しない炭素数1~12の複素環を含むアルキル基、アリール基またはアラルキル基である。

また、XおよびYにおけるR、R'が互いに架橋している場合、R-R'は、例えばメチレン基、エチレン基、プロパンジイル基、ブタンジイル基、ベンタンジイル基、シクロヘンタンジイル基、シクロヘキサンジイル基等の置換基を有した有しない炭素数1~12のアルカンジイル基、フェニレン基、ナフタレンジイル基、フランジイル基、ヒリシンジイル基、イミダゾールジイル基、インドールジイル基等の複素環を含むまたは含まない炭素数1~12のアレーンジイル基である。

ンを採用することができる。

もちろん、本発明の降圧剤に含有せしめるアミノ酸誘導体として使用するときは医薬的に許容し得る塩の形態が要求される。

本発明のアミノ酸誘導体を製造するには、先ず、そのアミノ酸が保護されたアラニンと、そのカルボキシル基が保護されたプロリンとを反応せしめて、アラニルプロリンを調製し、そのカルボキシル基の保護基を除去し、更にカルボキシル基が保護されたプロリンと反応せしめ、必要により保護基を除去してアラニル-プロリル-プロリンのトリペプチドを合成した後、末端アミノ基の水素をアシル基等の官能基と置換すればよい。

本発明の誘導体やその中間体を製造するに際して使用するアミノ基、イミノ基、カルボキシル基および水酸基の保護基、保護方法、あるいは保護基の脱離方法、並びにアミノ基-カルボキシル基縮合方法によるアミド結合方法は、ペプチド合成において常用されている方法や公知文献、例えは、赤堀四朗、金子武夫、成田耕造編、タンパク質化

学1 アミノ酸・ペプチド、共立出版、昭和44年の例えは405~509頁等、により一般に使用され、慣用されているものを採用すればよい。また、アミノ酸を縮合法によりアミド結合を形成せしめるにはアミノ基を保護したアミノ酸の活性エステル、例えばp-ニトロフェニルエステルやN-ヒドロキシスクシンイミドエステルを反応せしめるとよい。反応に際して溶媒を用いる場合、溶媒としてDME、水を採用することができる。反応温度は室温でよいが、所望に応じ加熱して反応を促進させることもできる。

反応混合物より本発明の誘導体を単離するには、例えば反応混合物を濃縮乾固し残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製し、次いで凍結乾燥する。

本発明の誘導体を有効成分として降圧剤に使用するときには、遊離形、または前述のように塩あるいは保護基を有する形のもので無毒性のものを採用すればよい。本発明の降圧剤に使用する誘導体を構成するアミノ酸はL-体、D-体いずれで

これらの組合わせを具体的に示すと1日当たり15~200mgの範囲で臨上有効な本発明の降圧剤の一例は1日当たりの服用範囲で次に示される降圧剤および利尿剤とともに1日当たり3~200mgのレベル範囲で有効に供用することができる：ハイドロクロロチアジド(15~200mg)、クロロチアジド(125~2000mg)、エタクリニックアシッド(15~200mg)、アミロライド(5~20mg)、フロセマイド(5~80mg)、プロプラノロール(20~480mg)、チモロール(5~50mg)およびメチルドーバ(85~2000mg)。上記の服用範囲は分割される1日の用量に可能である必要に応じて単位ベースで調整される。また用量は病気の重さ、患者の体重および当業者が認める他の因子によって変化させる。

上記で示した典型的な併用は下で検討される通り製薬組成物に処方する。本発明の誘導体または生理学的に認められる塩の化合物または混和物約0.2~500mgは生理学的に認められるベヒクル、担体、賦形剤、結合剤、防腐剤、安定剤、香料などとともに一般に認められた製薬実施に要求され

もよい。

本発明のアミノ酸誘導体はヒトに包含される高血圧哺乳動物を治療する抗高血圧剤として有用でありそして経口投与として錠剤、カプセル剤またはエリキシル剤のような調剤でまたは非経口投与として無菌溶液剤または懸濁液剤で処方することによって血圧を低下せしめるために利用することができる。本発明のアミノ酸誘導体はかかる治療を必要とする患者(動物およびヒト)に対して患者当たり0.2~500mgの用量範囲で一般に数回に分けて從って1日当たり1~2000mgの全日用量で投与することができる。用量は病気の重さ、患者の体重および当業者が認める他の因子によって変化させる。

また本発明のアミノ酸誘導体は他の利尿剤または抗高血圧剤とともに与えることができる。典型的にはこれらは1日用量当たりの1単位が最少限度にすすめられる臨時用量の1/3から単独で与えられる疾患(entities)単位に対して最大限度にすすめられるレベルまでの範囲である組合せである。

る単位用量形態で混和される。これらの組成物または製剤における活性物質の量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる具体的な薬剤は次に示すものである：トラガント、アラビアゴム、コーンスタークまたはゼラチンのような結合剤；微晶性セルロースのような賦形剤；コーンスターク、前ゼラチン化デンブン、アルギン酸などのような膨化剤；ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤；ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤；ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香料；調剤単位形態がカプセルである場合には上記のタイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。種々の他の材料は被覆剤としてまたは調剤単位の物理的形態を別の方法で変化させるために存在させることができる。例えば錠剤はシェラック、砂糖またはその両方で被覆することができる。シロップまたはエリキシルは活性化合物、甘味剤としてショ糖、防腐剤としてメチルおよびプロピル

パラベン、色素およびチェリーまたはオレンジ香味のような香味剤を含有することができる。

注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、オマ油、ヤシ油、落花生油、綿実油などの天然産出植物油またはエチルオレエートなどの合成脂肪ベヒクルを溶解または懸濁させる通常の製薬実施に従って処方することができる。緩衝剤、防腐剤、酸化防止剤などが必要に応じて結合することができる。

以下、実施例により本発明を詳細に説明する。

ルーラー-ブロリン 5.7gを得た。

NMRスペクトル[CDCI₃, TMS内部標準]

1.07~1.45ppm(m,6H) 1.63~2.40ppm(m,8H)
3.20~3.81ppm(m,4H) 4.00ppm(q,2H)
4.17~4.68ppm(m,3H) 5.45ppm(d,1H)
9.00ppm(s,1H)

TLC[酢酸エチル:メタノール=1:1;ヨード]

Rf = 0.32

質量分析[FABモード]

M+H; 356

実施例2 N-(3-フェニルプロピオニル)-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンの合成

(a) N-(3-フェニルプロピオニル)-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン

フェニルプロピオン酸3g(20ミリモル)を1,2-ジクロルエタン80mlに溶解し、内温5~8°Cに保持しつつ、L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンメチルエステル塩酸塩6.69g、トリエチルアミン2.02g(20ミリモル)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール0.35g(3ミリモル)、ジシクロヘキシリ

実施例1 N-エトキシカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンの合成

L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン5.68g(20ミリモル)に水10mlとアセトン30mlを加え、5N-水酸化ナトリウム水でpH12.0に調整した。攪拌下、内温10°C以下pH12~12.5に保持しつつ、90%クロルギ酸エチル2.92g(20ミリモル)と1,2-ジクロルエタン5mlの混合溶液と5N-水酸化ナトリウム水を30分間かけて同時に滴下した。滴下終了後、同温で1時間攪拌した後、1,2-ジクロルエタン20mlと水20mlを加え、水層と1,2-ジクロルエタン層に分離させた。水層に6N-塩酸を加え、pH3.0に調整した後、塩化ナトリウム結晶を白濁するまで加えクロロホルム30mlで3回抽出した。クロロホルム層を無水芒硝で乾燥した後、減圧下にクロロホルムを留去した。この濃縮残渣に四塩化炭素30mlを加え、減圧下に濃縮乾固した後、エチルエーテル100mlを加え、かきませていると徐々に固化した。固体物を漉取し、乾燥し、N-エトキシカルボニル-L-アラニル-L-ブロリ

カルボジイミド4.12g(20ミリモル)を加え4時間攪拌した。更に、室温で一夜攪拌した後、析出したジシクロヘキシリウレアートリエチルアミン塩酸塩の結晶を漉別し、1,2-ジクロルエタン20mlで洗浄した。濾液と洗液を合せ、0.5N-塩酸50ml、水80ml、0.5N-水酸化ナトリウム水60ml、水80mlの順で洗浄した後、1,2-ジクロルエタン層を減圧下に濃縮乾固した。得られたシロップ状の濃縮残渣に水50mlと5N-水酸化ナトリウム水5mlを加え、室温で2時間攪拌した。ケン化終了後、析出したジシクロヘキシリウレアートリエチルアミン塩酸塩の結晶を漉別し、水5mlで洗浄した。濾液と洗液を合せ、6N-塩酸でpH2.5に調整した後、1,2-ジクロルエタン100mlで抽出し、1,2-ジクロルエタン層を水30mlで洗浄した後、減圧下に1,2-ジクロルエタンを留去した。この濃縮残渣に四塩化炭素30mlを加え、減圧下に濃縮乾固した後、エチルエーテル100mlを加え、かきませていると徐々に固化した。固体物を漉取し、乾燥し、N-フェニルプロピオニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリ

ン5.8gを得た。

NMRスペクトル[CDCI ₃ , TMS内部標準]	
1.27 ppm(d,3H)	1.72~2.31 ppm(m,8H)
2.32~2.62 ppm(m,2H)	2.70~3.02 ppm(m,2H)
3.27~3.88 ppm(m,4H)	4.32~4.75 ppm(s,3H)
6.52 ppm(d,1H)	7.05 ppm(s,5H)
8.99 ppm(s,1H)	

TLC [酢酸エチル:メタノール=1:1;ヨード]
Rf = 0.30

質量分析[FABモード]

M+H; 416

(b) N-(3-フェニルプロピオニル)-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン・L-アルギニン塩

N-(3-フェニルプロピオニル)-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン1.00g(2.41ミリモル)とL-アルギニン0.420g(2.41ミリモル)から、N-ベンゾイルスルフォニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン・L-アルギニン塩の調製と同様の方法により、目的のN-(3-

ブロリル-L-ブロリン1.70gを得た。

NMRスペクトル[CDCI ₃ , TMS内部標準]	
1.33 ppm(d,3H)	1.70~2.45 ppm(m,8H)
1.96 ppm(s,3H)	3.27~3.92 ppm(m,4H)
4.40~4.89 ppm(m,3H)	5.88~8.86 ppm(br,2H)

TLC [酢酸エチル:メタノール=1:1;ヨード]
Rf = 0.20

質量分析[FABモード]

M+H; 326

実施例4 N-ブロピオニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンの合成

L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンベンジルエステル塩酸塩2.46g(6.0ミリモル)を塩化メチレン20mlに溶解し、-10℃に冷却しつつ、トリエチルアミン1.34g(13.2ミリモル)を加えた後、無水ブロピオニ酸0.85g(6.6ミリモル)の塩化メチレン(10ml)溶液を-10℃で滴下した。室温にて一夜搅拌した後、塩化メチレン130mlを加え、各100mlの1N塩酸、水、5%重曹水、水の順で洗浄した。塩化メチレン層を無水芒硝で乾燥し、減圧下に溶媒を留去することにより、油状残渣2.48gを得た。

フェニルブロピオニル)-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン・L-アルギニン塩1.40gを得た。

実施例3 N-アセチル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンの合成

L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンベンジルエステル塩酸塩2.46g(6.0ミリモル)を塩化メチレン20mlに溶解し、-10℃に冷却しつつ、トリエチルアミン1.34g(13.2ミリモル)を加えた後、無水酢酸0.67g(6.6ミリモル)の塩化メチレン(10ml)溶液を-10℃で滴下した。室温にて一夜搅拌した後、塩化メチレン130mlを加え、各100mlの1N塩酸、水、5%重曹水、水の順で洗浄した。塩化メチレン層を無水芒硝で乾燥し、減圧下に溶媒を留去することにより、油状残渣2.48gを得た。

これを50%含水メタノール30mlに溶解し、触媒として5%パラジウム炭素0.5gを加え、2時間水素を通じた。触媒を濾別後、溶媒を減圧下に留去して得たガラス状残渣をメタノール/エーテルより再結晶してN-アセチル-L-アラニル-L-

ブロリル-L-ブロリン1.71gを得た。

これを50%含水メタノール30mlに溶解し、触媒として5%パラジウム炭素0.5gを加え、2時間水素を通じた。触媒を濾別後、溶媒を減圧下に留去して得たガラス状残渣をメタノール/エーテルより再結晶してN-ブロピオニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン1.71gを得た。

NMRスペクトル[CDCI₃, TMS内部標準]

1.13 ppm(t,3H)	1.33 ppm(d,3H)
1.72~2.45 ppm(m,10H)	3.35~3.94 ppm(m,4H)
4.45~4.90 ppm(m,3H)	5.73~8.90 ppm(br,2H)

TLC [酢酸エチル:メタノール=1:1;ヨード]

Rf = 0.34

質量分析[FABモード]

M+H; 340

実施例5 N-ヒコリノイル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンの合成

L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンベンジルエステル塩酸塩2.05g(5ミリモル)をクロロ

ホルム20mlに溶解し、-15°Cに冷却しつつ、トリエチルアミン0.51g(5ミリモル)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール0.67g(5ミリモル)、ピコリン酸0.73g(6.0ミリモル)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩0.96g(5ミリモル)を加え、0°C以下で1時間、室温で一夜搅拌した。溶液にクロロホルム100mlを加え、各100μlの5%重曹水、水で順次洗浄した後、クロロホルム層を無水芒硝で乾燥し、減圧下に溶媒を留去して2.36gの油状残渣を得た。これをカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、展開溶媒;酢酸エチル:メタノール=20:1)で精製することにより得たN-ビコリノイル-レアラニル-レーブロリル-レーブロリンベンジルエステル1.70gをメタノール30mlに溶解し、5%バラジウム炭素0.5gを触媒に3時間水素を通じた。触媒を濾別後、溶媒を留去して得たガラス状残渣をメタノール/エーテル/石油エーテルから再結晶してN-ビコリノイル-レアラニル-レーブロリル-レーブロリン1.10gを得た。

しく搅拌しつつpHを2に調整した後、水層と酢酸エチル層を分離し、酢酸エチル100mlで、再度水層の溶媒抽出を行った。先に分離した酢酸エチル層と、抽出後の酢酸エチル層を合わせ、無水芒硝で乾燥した後、減圧下に溶媒を留去してガラス状残渣3.17gを得、これを酢酸エチル/四塩化炭素から再結晶して、N-(2-テノイル)-L-アラニル-レーブロリル-レーブロリン1.18gを得た。

NMRスペクトル[CDCI₃, TMS内部標準]

1.44ppm(d,3H)	1.70~2.45ppm(m,8H)
3.35~4.00ppm(m,4H)	4.40~4.73ppm(m,2H)
4.83ppm(q,1H)	6.96ppm(t,1H)
7.23ppm(d,1H)	7.33~7.60ppm(m,2H)
7.88ppm(s,1H)	

TLC[酢酸エチル:メタノール=1:1;ヨード]

$$R_f = 0.31$$

質量分析[FABモード]

$$M + H; 394$$

実施例7 N-(2-フロイル)-L-アラニル-

NMRスペクトル[CDCI₃, TMS内部標準]

1.50ppm(d,3H)	1.80~2.43ppm(m,8H)
3.35~4.00ppm(m,4H)	4.46~4.79ppm(m,2H)
4.95ppm(q,1H)	6.85~7.45ppm(m,2H)
7.75ppm(t,1H)	8.08ppm(d,1H)
8.50ppm(d,1H)	8.63ppm(d,1H)

TLC[酢酸エチル:メタノール=1:1;ヨード]

$$R_f = 0.23$$

質量分析[FABモード]

$$M + H; 389$$

実施例6 N-(2-テノイル)-L-アラニル-レーブロリル-レーブロリンの合成

L-アラニル-レーブロリル-レーブロリン2.83g(10ミリモル)を水/ジオキサン(2:1)30mlに溶解し、1N水酸化ナトリウム水で溶液のpHを1.0に調整した。氷冷搅拌下1N水酸化ナトリウム水でpHを9.5~10に保ちつつ、2-テノイルクロライド1.47g(10ミリモル)のジオキサン(10ml)溶液を滴下した後、室温でさらに3時間搅拌した。この溶液に水30ml、酢酸エチル150mlを加え、濁

L-アラニル-レーブロリル-レーブロリンの合成

L-アラニル-レーブロリル-レーブロリン2.83g(10ミリモル)を水/ジオキサン(2:1)30mlに溶解し、1N水酸化ナトリウム水で溶液のpHを1.0に調整した。氷冷搅拌下1N水酸化ナトリウム水でpHを9.5~10に保ちつつ、2-フロイルクロライド1.31g(10ミリモル)のジオキサン(10ml)溶液を滴下した後、室温でさらに3時間搅拌した。溶液のpHを1N塩酸で2に調整し、減圧下に濃縮後、酢酸エチル100mlで2回抽出を行った。得られた酢酸エチル層を無水芒硝で乾燥し溶媒を減圧留去することによりガラス状残渣2.47gを得、これを酢酸エチルから再結晶してN-(2-フロイル)-L-アラニル-レーブロリル-レーブロリン1.48gを得た。

NMRスペクトル[CDCI₃, TMS内部標準]

1.45ppm(d,3H)	1.76~2.45ppm(m,8H)
3.37~3.97ppm(m,4H)	4.45~4.73ppm(m,2H)
4.84ppm(q,1H)	6.39ppm(q,1H)
7.02ppm(d,1H)	7.20ppm(d,1H)

7.26 ppm (s, 1H) 8.14 ~ 9.03 ppm (br, 1H)
 TLC [酢酸エチル:メタノール = 1:1 ;ヨード]
 Rf = 0.26

質量分析 [FAB モード]

M + H; 378

実施例 8 N-フタロイル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリンの合成

L-アラニル-L-プロリル-L-プロリン 2.83g (10ミリモル) を、炭酸ナトリウム 1.06g (10ミリモル) を溶かした水 20mL に溶解した。溶液にジオキサン 10mL を加えた後、N-カルベトキシフタルイミド 2.19g (10ミリモル) のジオキサン (10mL) 溶液を滴下した。室温で 2 時間攪拌した後、溶液を酢酸エチル 50mL で洗浄した。溶液に水 50mL、酢酸エチル 150mL を加え、激しく攪拌しつつ、1N 塩酸で pH を 2 に調整した。酢酸エチル層を分離し、無水芒硝で乾燥後、溶媒を減圧留去して得られた残渣を酢酸エチル / エーテルから再結晶して N-フタロイル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリン 1.01g を得た。

実施例 9 N-(ベンジルチオ)チオカルボニル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリン L-アルギニン塩の合成

(a) N-(ベンジルチオ)チオカルボニル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリン
 L-アラニル-L-プロリル-L-プロリン 2.83g (10ミリモル) を水 / ジオキサン (2:1) 15mL に溶解し、トリエチルアミン 2.13g (21ミリモル) を加えた。溶液に二硫化炭素 0.76g (10ミリモル) のジオキサン (5mL) 溶液を滴下し、滴下終了後、室温で 1 時間攪拌した。次いで、臭化ベンジル 1.71g (10ミリモル) を加え、さらに室温で一夜攪拌した後、溶液に水 100mL、酢酸エチル 150mL を加え、激しく攪拌しつつ、1N 塩酸で pH を 2 に調整した。酢酸エチル層を分離し、無水芒硝で乾燥後、溶媒を減圧下に留去してガラス状残渣を得、これを酢酸エチル / ノーヘキサンから再結晶して N-(ベンジルチオ)チオカルボニル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリン 2.33g を得た。

NMR スペクトル [CDCl₃, TMS 内部標準]

1.68 ppm (d, 3H) 1.70 ~ 2.46 ppm (m, 8H)
 3.12 ~ 3.90 ppm (m, 4H) 4.50 ~ 4.68 ppm (m, 2H)
 4.99 ppm (q, 1H) 6.65 ~ 7.35 ppm (br, 1H)
 7.52 ~ 7.86 ppm (m, 4H)

TLC [酢酸エチル:メタノール = 1:1 ;ヨード]

Rf = 0.34

質量分析 [FAB モード]

M + H; 414

1.47 ppm (d, 3H) 1.75 ~ 2.40 ppm (m, 8H)
 3.30 ~ 3.97 ppm (m, 4H) 4.33 ~ 4.71 ppm (m, 2H)
 4.42 ppm (s, 2H) 5.53 ppm (t, 1H)
 6.64 ~ 7.25 ppm (br, 1H) 7.22 ppm (s, 5H)
 7.99 ppm (d, 1H)

TLC [メタノール:酢酸 = 20:1 ; 25% 奥化水素酸酢酸溶液およびニンヒドリン噴霧後加熱]

Rf = 0.76

質量分析 [FAB モード]

M + H; 450

(b) N-(ベンジルチオ)チオカルボニル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリン L-アルギニン塩

N-(ベンジルチオ)チオカルボニル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリン 0.90g (2ミリモル) を L-アルギニン 0.35g (2ミリモル) の水 (30mL) 溶液に溶解し、凍結乾燥することにより、N-(ベンジルチオ)チオカルボニル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリン L-アルギニン塩 1.22g を得た。

実施例10 N-(3-カルボキシプロパノイル)-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンの合成

L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンメチルエステル塩酸塩3.34g(10ミリモル)を塩化メチレン30mlに溶解し、-10°Cに冷却しつつ、トリエチルアミン2.23g(22ミリモル)を加えた後、エチルサクシノイルクロライド1.98g(12ミリモル)の塩化メチレン(10ml)溶液を-10°Cで滴下した。室温にて一夜搅拌した後、塩化メチレン100mlを加え、各50mlの5%重曹水、水、1N塩酸、水の順で洗浄した。塩化メチレン層を無水芒硝で乾燥し、減圧下に溶媒を留去することにより、油状残渣4.08gを得た。

これをメタノール10mlに溶解し、1N水酸化ナトリウム水20mlを加えた後、35°Cで2時間搅拌した。反応液をDowex 50W-X4(H⁺型)のカラムに通し、得られた溶液とカラムの洗液を合わせ減圧濃縮した後、凍結乾燥することにより、N-(3-カルボキシプロパノイル)-L-アラニル-L-

滴下した。反応液をさらに室温で3時間搅拌後、エーテル層を分離し、水層をさらにエーテル10mlで洗浄した。水層に酢酸エチル20mlを加え、搅拌しながら、6N塩酸で溶液のpHを1.0に調整した。酢酸エチル層を分離し、水層をさらに酢酸エチル20mlで抽出した。酢酸エチル溶液を合せて、10%食塩水20mlで洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧下に酢酸エチルを除去した。シロップ状の残渣にエーテルを加え結晶化を行い、生じた結晶を濾過し、エーテルで充分に洗浄後、減圧下に乾燥し、白色結晶のN-ベンジルスルホニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン1.41gを得た。

NMRスペクトル[CDCI₃, TMS内部標準]

1.21ppm(d,3H)	1.70~2.45ppm(m,8H)
2.98~3.90ppm(m,4H)	4.17ppm(s,2H)
4.22~4.75ppm(m,3H)	5.63ppm(d,1H)
7.28ppm(s,5H)	9.00ppm(s,1H)

TLC[酢酸エチル:メタノール=1:1;ヨード]

Rf = 0.52

-ブロリル-L-ブロリン2.05gを得た。

NMRスペクトル[CDCI₃, TMS内部標準]

1.33ppm(d,3H)	1.65~2.35ppm(m,8H)
2.36~2.70ppm(m,4H)	3.25~3.70ppm(m,4H)
4.22~4.80ppm(m,3H)	5.50~7.10ppm(br,2H)
8.94ppm(d,1H)	

TLC[酢酸エチル:メタノール=1:1;ヨード]

Rf = 0.10

質量分析[FABモード]

M+H; 384

実施例11 N-ベンジルスルホニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン-L-アルギニン塩の合成

(a) N-ベンジルスルホニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンの合成

L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン3.00g(10.6ミリモル)を1N水酸化ナトリウム水溶液21.2ml(21.2ミリモル)に溶解し、氷冷下、搅拌し、ベンジルスルホニルクロライド2.02g(10.6ミリモル)をエーテル10mlに溶解した溶液を15分で

質量分析[FABモード]

M+H; 438

(b) N-ベンジルスルホニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン・L-アルギニン塩の開裂
N-ベンジルスルホニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン1.00g(2.29ミリモル)とL-アルギニン0.399g(2.29ミリモル)を水50mlに加え、室温で1時間搅拌溶解した。溶液を濾過後、濾液を凍結乾燥してN-ベンジルスルホニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン・L-アルギニン塩1.30gを得た。

実施例12 N-エタンスルホニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンの合成

(a) N-エタンスルホニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン・ベンジルエステル
L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン・ベンジルエステル塩酸塩4.09g(10.0ミリモル)をジクロルメタン40mlに加え、氷冷下、搅拌しながら、トリエチルアミン2.02g(20.0ミリモル)を加え、さらに、エタンスルホニルクロライド1.29g(10.0

ミリモル)を含むジクロルメタン溶液10mlを1時間で滴下した。反応液を一晩、室温で放置後、1N塩酸20mlで2回、10%食塩水20mlで1回、10%炭酸水素ナトリウム水溶液20mlで2回、10%食塩水20mlで1回、順次、洗浄した。ジクロルメタン層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下に溶剤を除去し、シロップ状のN-エタンスルホニル-L-アニル-L-プロリル-L-ブロリンを得た。

TLC [酢酸エチル:メタノール=1:1;ヨード]
Rf = 0.36

(b) N-エタンスルホニル-L-アニル-L-プロリル-L-ブロリン

N-エタンスルホニル-L-アニル-L-ブロリル-L-ブロリン・ベンジルエステル2.00g(4.29ミリモル)をメタノール10mlと水10mlよりなる混合溶媒に溶解し、5%バラジウム炭素を加えて、水素ガスを1時間半、室温でバブルさせた。反応液にセライトを加え、2度濾過した、触媒を完全に除去した後、濾液を減圧下に濃縮した。生成し

た結晶を濾過し、酢酸エチルで充分に洗浄した後に、減圧下に乾燥し、白色結晶のN-エタンスルホニル-L-アニル-L-ブロリル-L-ブロリン1.17gを得た。

NMRスペクトル[CDCl₃, TMS内部標準]

1.20~1.57ppm(s,5H)	1.80~2.45ppm(s,8H)
2.93ppm(q,2H)	3.36~3.95ppm(s,4H)
4.24~4.75ppm(s,3H)	5.72ppm(d,1H)
8.28ppm(s,1H)	

TLC [酢酸エチル:メタノール=1:1;ヨード]

Rf = 0.36

質量分析[FABモード]

M+H; 376

実施例13 N-ベンゾイル-L-アニル-L-プロリル-L-ブロリンの合成

L-アニル-L-ブロリル-L-ブロリン3.00g(10.6ミリモル)を1N水酸化ナトリウム水溶液21.2ml(21.2ミリモル)に溶解し、そこへベンゾイルクロライド1.49g(10.6ミリモル)をエーテル10mlに溶解した溶液を、氷冷下攪拌しながら30分

Rf = 0.36

質量分析[FABモード]

M+H; 388

実施例14 N-フェニルアセチル-L-アニル-L-ブロリル-L-ブロリンの合成

L-アニル-L-ブロリル-L-ブロリン3.00g(10.6ミリモル)とフェニルアセチルクロライド1.64g(1.06ミリモル)をN-ベンゾイル-L-アニル-L-ブロリル-L-ブロリンの合成と同様の条件下に反応し、処理した。

反応生成物の酢酸エチル抽出溶液(40ml)を無水硫酸ナトリウムで乾燥後冷蔵庫に2日放置すると針状結晶を生じた。結晶を濾取し乾燥し、2.27gの目的物を得た。この結晶を酢酸エチル200mlにより再結してN-フェニルアセチル-L-アニル-L-ブロリル-L-ブロリン1.27gを得た。

NMRスペクトル[CDCl₃, TMS内部標準]

1.29ppm(d,3H)	1.78~2.42ppm(s,8H)
3.37~3.90ppm(s,4H)	3.47ppm(s,2H)
7.60~7.87ppm(s,2H)	8.40ppm(s,1H)

で滴下した。さらに室温で4時間攪拌後、反応液(pH10)をエーテル20mlで2回洗浄した。水層に6N塩酸を加えて、pH1.0に調整後、酢酸エチル30mlで2回生成物を抽出した。酢酸エチル層を10%食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧下に溶媒を除去した。シロップ状の残渣にエーテルを加えて結晶化し、生じた結晶を濾取した(収量2.10g)。

この結晶を酢酸エチル30mlに溶解させ、濾液にエーテルを加え、にごりを生じた溶液を冷蔵庫に一晩放置した。生じた結晶を濾取し、エーテル、石油エーテルで洗浄し、減圧下乾燥して白色のN-ベンゾイル-L-アニル-L-ブロリル-L-ブロリン1.01gを得た。

NMRスペクトル[CDCl₃, TMS内部標準]

1.48ppm(d,3H)	1.80~2.37ppm(s,8H)
3.40~4.01ppm(s,4H)	4.46~4.77ppm(s,2H)
4.90ppm(t,1H)	7.12~7.53ppm(s,4H)
7.60~7.87ppm(s,2H)	8.40ppm(s,1H)

TLC [酢酸エチル:メタノール=1:1;ヨード]

7.19 ppm(s, 5H) 8.39 ppm(s, 1H)
 T L C [酢酸エチル:メタノール=1:1;ヨード]
 R f = 0.34
 質量分析[F A B モード]
 M + H; 402

実施例15 N-ベンジルオキシカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン-L-アルギニン塩の合成

(a) N-ベンジルオキシカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンメチルエステル4.31g(10ミリモル)に1.5N水酸化ナトリウム水10mL(15ミリモル)を加え、30°Cにて2時間攪拌した後、溶液のpHを1N塩酸で2.5に調整した。1,2-ジクロロエタン50mLで2回抽出を行い、得られた1,2-ジクロロエタン層を減圧下に濃縮した。残渣をアセトン/水から再結晶してN-ベンジルオキシカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン3.68gを得た。

実施例16 N-t-ブチルオキシカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンの合成

N-t-ブチルオキシカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンベンジルエステル5.0g(10.8ミリモル)をメタノール100mLに溶解し、パラジウム炭素を触媒に3時間水素を通じた。触媒を濾別後、溶媒を留去することにより得られた残渣を水に溶解し、凍結乾燥してN-t-ブチルオキシカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン4.04gを得た。

N M R スペクトル[C D C I, T M S 内部標準]
 1.33 ppm(d, 3H) 1.42 ppm(s, 9H)
 1.80 ~ 2.42 ppm(m, 8H) 3.40 ~ 3.89 ppm(m, 4H)
 4.30 ~ 4.73 ppm(m, 3H) 5.26 ppm(d, 1H)
 6.22 ppm(s, 1H)

T L C [n-ブタノール:酢酸:水=2:1:1;25%臭化水素酸酢酸溶液およびニンヒドリン噴霧後加熱]
 R f = 0.69
 質量分析[F A B モード]
 M + H; 384

N M R スペクトル[C D C I, T M S 内部標準]
 1.33 ppm(d, 3H) 1.72 ~ 2.30 ppm(m, 9H)
 3.30 ~ 3.85 ppm(m, 4H) 4.22 ~ 4.72 ppm(m, 3H)
 5.00 ppm(s, 2H) 5.74 ppm(d, 1H)
 7.27 ppm(s, 5H)

T L C [酢酸エチル:メタノール=1:1;25%臭化水素酸酢酸溶液およびニンヒドリン噴霧後加熱]

R f = 0.44

質量分析[F A B モード]

M + H; 418

(b) N-ベンジルオキシカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン-L-アルギニン塩

N-ベンジルオキシカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン1.00g(2.40ミリモル)をL-アルギニン0.418g(2.40ミリモル)の水(50mL)溶液に溶解し、凍結乾燥することによりN-ベンジルオキシカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン-L-アルギニン塩1.40gを得た。

実施例17 N-フェニルアミノカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン-L-アルギニン塩の合成

(a) N-フェニルアミノカルボニル-L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリンの合成

L-アラニル-L-ブロリル-L-ブロリン3.00g(10.8ミリモル)を1N水酸化ナトリウム水溶液10.6mL(10.6ミリモル)に溶解後、氷冷攪拌しつつこれに、フェニルイソシアネート1.89g(15.9ミリモル)をゆっくり加えた。その後、反応液を室温で、一晩攪拌した。反応液はpH~7、白い結晶を生じた。反応液のpHを1N水酸化ナトリウム水溶液で12に調整後、不溶物を濾別した。濾液をエーテル50mLで2回洗浄後、6N塩酸を加えてpHを1.0に調整し、酢酸エチル100mLで2回、生成物を抽出した。酢酸エチル層を10%食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して、減圧下に濃縮した。結晶を生じた濃縮物にエーテルを加え、さらに結晶化をはかり、結晶を濾取して乾燥し、N-フェニルアミノカルボニル-L-アラニル-

レーブロリル- L- プロリン 2.50gを得た。

N M R スペクトル [C D C l , + D M S O - d 6 , T M S 内部標準]

1.30 ppm (d, 3H)	1.67 ~ 2.33 ppm (m, 8H)
3.30 ~ 3.91 ppm (m, 4H)	4.22 ~ 4.73 ppm (m, 3H)
6.29 ppm (d, 1H)	6.67 ~ 7.35 ppm (m, 5H)
8.35 ppm (s, 1H)	

T L C [メタノール : 酢酸 = 9:1 ; ジード]

R f = 0.88

質量分析 [F A B モード]

M + H ; 403

(b) N-フェニルアミノカルボニル- L-アラニル- L-プロリル- L-プロリン・ L-アルギニン塩

N-フェニルアミノカルボニル- L-アラニル- L-プロリル- L-プロリン 1.00g (2.49ミリモル) と L-アルギニン 0.433g (2.49ミリモル) から前述の方法にしたがって、目的の N-フェニルアミノカルボニル- L-アラニル- L-プロリル- L-プロリン・ L-アルギニン塩 1.38gを得た。

8.45 ppm (s, 1H) 9.67 ppm (s, 1H)

T L C [メタノール : 酢酸 = 9:1 ; ジード]

R f = 0.76

質量分析 [F A B モード]

M + H ; 419

(b) N-フェニルアミノチオカルボニル- L-アラニル- L-プロリル- L-プロリン・ L-アルギニン塩

N-フェニルアミノチオカルボニル- L-アラニル- L-プロリル- L-プロリン 1.00g (2.49ミリモル) と L-アルギニン 0.433g (2.49ミリモル) から、前述の方法にしたがって、目的の N-フェニルアミノチオカルボニル- L-アラニル- L-プロリル- L-プロリン・ L-アルギニン塩 1.38gを得た。

実施例19 レーブロリル- L-アラニル- L-プロリル- L-プロリンの合成

レ-アラニル- L-プロリル- L-プロリンベニジルエステル塩酸塩 2.46g (6ミリモル)、ベニジルオキシカルボニル- L-プロリン 1.65g (6.6ミリモル) 得た。

実施例18 N-フェニルアミノチオカルボニル- L-アラニル- L-プロリル- L-プロリン・ L-アルギニン塩の合成

(a) N-フェニルアミノチオカルボニル- L-アラニル- L-プロリル- L-プロリンの合成

L-アラニル- L-プロリル- L-プロリン 3.00g (10.6ミリモル) とフェニルイソチオシアネート 2.15g (15.9ミリモル) を N-フェニルアミノカルボニル- L-アラニル- L-プロリル- L-プロリンの合成法と同様な方法で反応させ、処理した。

酢酸エチル抽出液から減圧下に溶媒を除去後、エーテルに加えて生じた結晶を濾取、洗浄、乾燥して、N-フェニルアミノチオカルボニル- L-アラニル- L-プロリル- L-プロリン 2.65gを得た。

N M R スペクトル [C D C l , T M S 内部標準]

1.38 ppm (d, 3H)	1.67 ~ 2.36 ppm (m, 8H)
3.24 ~ 4.05 ppm (m, 4H)	4.20 ~ 4.74 ppm (m, 2H)
5.15 ppm (t, 1H)	7.24 ppm (s, 5H)

リモル)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール 0.9g (6.6ミリモル) をジメチルホルムアミド 6ml に溶解し、-15°C にて 1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド 1.2ml (6.6ミリモル) を加えた。室温で 16 時間攪拌した後、反応液に酢酸エチルを加え、1N 塩酸、5% 重曹水、水で順次洗浄した。酢酸エチル層を無水芒硝で乾燥後、溶媒を減圧下に留去することにより油状残渣を得、これをメタノール / 水 (4:1) 25ml に溶解し、バラジウム黒を触媒に 2 時間水素を通じた。触媒を濾別後、溶媒を留去して得た残渣をメタノール / エーテルより再結晶して L-プロリル- L-アラニル- L-プロリル- L-プロリン 1.48gを得た。

元素分析値 C 16H 20N O 5 · CH 2O H · H 2O として

Calcd; C: 53.01, H: 7.96, N: 13.02

Found; C: 52.88, H: 7.85, N: 13.01

アミノ酸分析値 [6N 塩酸加水分解]

A l a: P ro = 1.00: 2.94

T L C [n-ブタノール : 酢酸 : 水 = 4:1:5 (上層)]

; = ニンヒドリン噴霧後加熱]

 $R_f = 0.2$

質量分析[FABモード]

M+H; 381

実施例20 L-アラニル-L-プロリル-L-プロリンの合成

L-アラニル-L-プロリル-L-プロリンベンジルエステル塩酸塩2.46g(6ミリモル)をジメチルホルムアミド10mlに溶解し、冷却下、トリエチルアミン0.84ml(6ミリモル)を加えて中和した後、ベンジルオキシカルボニルグリシンN-ヒドロキシコハク酸イミドエステル2.02g(6.6ミリモル)を加えた。反応液のpHをトリエチルアミンで7付近に調整しつつ、2日間攪拌した後、酢酸エチル150mlを加え、1N塩酸、5%重曹水、水で順次洗浄した。酢酸エチル層を無水芒硝で乾燥し、減圧下に溶媒を留去することにより得られた残渣を酢酸エチルから再結晶してN-ベンジルオキシカルボニルグリル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリンベンジルエステル1.3gを得た。このう

ルホルムアミド10mlに溶解し、冷却下、トリエチルアミン0.84ml(6ミリモル)を加えて中和した後、ベンジルオキシカルボニル-L-ビログルタミル酸N-ヒドロキシコハク酸イミドエステル2.38g(6.6ミリモル)を加えた。反応液のpHをトリエチルアミンで7付近に調整しつつ、2日間攪拌した後、酢酸エチル150mlを加え、1N塩酸、5%重曹水、水で順次洗浄した。酢酸エチル層を無水芒硝で乾燥し、減圧下に溶媒を留去して得た残渣にn-ヘキサンを加えることにより粉末とし、これをカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、展開溶媒:クロロホルム:エタノール:酢酸エチル=5:1:5)で精製し、主成分を集め濃縮した。残渣にn-ヘキサンを加えることにより析出した粉末をメタノール50mlに溶解し、パラジウム黒を触媒に4時間水素を通じた。触媒を濾別後、溶媒を留去し、残流をメタノール/エーテルにより再結晶してL-ビログルタミル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリン880mgを得た。

元素分析値 C₁₅H₂₂N₂O₅ · CH₃OH · 0.75

ちの1.2gをメタノールに溶解しパラジウム黒を触媒に3時間水素を通じた。触媒を濾別後、溶媒を留去し、残流をメタノール/エーテルにより再結晶してグリル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリン688mgを得た。

元素分析値 C₁₅H₂₂N₂O₅ · CH₃OH · 0.8 H₂Oとして

Calcd: C:49.68, H:7.71, N:14.48

Found: C:49.34, H:7.93, N:14.73

アミノ酸分析値[6N塩酸加水分解]

Gly:Ala:Pro=1.00:0.97:1.96

TLC[n-ブタノール:酢酸:水:ビリジン=15:3:12:10;ニンヒドリン噴霧後加熱]

 $R_f = 0.30$

質量分析[FABモード]

M+H; 341

実施例21 L-ビログルタミル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリンの合成

L-アラニル-L-プロリル-L-プロリンベンジルエステル塩酸塩2.46g(6ミリモル)をジメチ

H₂Oとして

Calcd: C:51.99, H:7.00, N:12.76

Found: C:52.04, H:7.30, N:12.63

アミノ酸分析値[6N塩酸加水分解]

Glu:Ala:Pro=1.00:0.98:1.96

TLC[n-ブタノール:酢酸:水=4:1:5
(上層);ニンヒドリン噴霧後加熱] $R_f = 0.23$

質量分析[FABモード]

M+H; 395

実施例22 L-フェニルアラニル-L-アラニル-L-プロリル-L-プロリンの合成

L-アラニル-L-プロリル-L-プロリンベンジルエステル塩酸塩2.46g(6ミリモル)をジメチルホルムアミド10mlに溶解し、冷却下、トリエチルアミン0.84ml(6ミリモル)を加えて中和した後、ベンジルオキシカルボニル-L-フェニルアラニンN-ヒドロキシコハク酸イミドエステル2.62g(6.6ミリモル)を加えた。反応液のpHをトリエチルアミンで7付近に調整しつつ、2日間攪拌した

後、酢酸エチル150mlを加え、1N塩酸、5%重曹水、水で順次洗浄した。酢酸エチル層を無水芒硝で乾燥し、減圧下に溶媒を留去することにより得られた残渣を酢酸エチルから再結晶してN-ベンジルオキシカルボニル-レーフェニルアラニル-レーラニル-レーブロリル-レーブロリンベンジルエステル3.2gを得た。このうちの3gをメタノール100mlに溶解し、バラジウム炭素を触媒に5時間水素を通じた。触媒を濾別後、溶媒を留去し、残渣をメタノール/エーテルにより再結晶してレーフェニルアラニル-レーラニル-レーブロリル-レーブロリン1.4gを得た。

アミノ酸分析値[6N塩酸加水分解]

Ala:Pro:Phen = 1.00:1.94:0.99

TLC[n-ブタノール:酢酸:水 = 4:1:5

(上層);ニンヒドリン噴霧後加熱]

Rf = 0.19

質量分析[FABモード]

M+H; 431

噴霧後加熱]

Rf = 0.43

質量分析[FABモード]

M+H; 374

実施例24 N,N-ジメチル-レーラニル-レーブロリル-レーブロリンの合成

L-アラニル-レーブロリル-レーブロリン2.83g(9.99ミリモル)、37%ホルマリン6ml、5%Pd-C 2.5g、および水50mlをオートクレーブに入れ、水素圧50kg/cm²で室温、40時間反応を行った。触媒を濾別し、濾液を活性炭で脱色したのち、イオン交換樹脂Dowex 50W-X4で精製し、凍結乾燥することによってN,N-ジメチル-レーラニル-レーブロリル-レーブロリン1.55gを得た。

NMRスペクトル[D₂O,DSS内部標準]

1.50ppm(d,3H)	1.70~2.51ppm(m,8H)
2.80ppm(s,6H)	3.33~3.88ppm(m,4H)
4.05~4.44ppm(m,3H)	

TLC[メタノール:酢酸 = 9:1;ヨード]

実施例23 N-ベンジル-レーラニル-レーブロリル-レーブロリンの合成

L-アラニル-レーブロリル-レーブロリン2.83g(9.99ミリモル)、ベンズアルデヒド5.50g(51.8ミリモル)、Zeolite 3A 20g、およびエタノール60mlを合せ、室温で一夜搅拌した。これに水素化ホウ素ナトリウム1.60g(42.3ミリモル)のエタノール70ml懸濁液を滴下し、終了後10時間搅拌した。Zeoliteを濾別し、濾液を減圧下濃縮した後、エーテルを加えて結晶化させた。結晶を濾別し、エーテル50mlで3回洗浄した後、イオン交換樹脂(Dowex 50W-X4)を用いて精製し、統いてエタノール、エーテルで再結晶することにより、N-ベンジル-レーラニル-レーブロリル-レーブロリン2.10gを得た。

NMRスペクトル[D₂O,DSS内部標準]

1.52ppm(d,3H)	1.73~2.50ppm(m,8H)
3.24~3.86ppm(m,4H)	3.93~4.58ppm(m,3H)
4.19ppm(s,2H)	7.45ppm(s,5H)

TLC[メタノール:酢酸 = 9:1;ニンヒドリン

Rf = 0.23

質量分析[FABモード]

M+H; 312

実施例25

前記に製造したアミノ酸誘導体について降圧活性を測定した。

供試動物として充分順化飼育し高血圧が確認されているSHR(自然発症高血圧ラット)(雄性、体重400~440g)を5匹/1試料として使用した。

血圧測定装置として、米国ナルコ社製「プログラムドエレクトロスフィグモマノメーター、ハイ-300J(Narco Co., "Programmed Electro-Sphygmomanometer PE-300")」を使用し、非観血的に血圧を測定した。

試料(0.05nmol/kg)の水溶液を経口ゾンデにて胃内に1回強制投与した。対照として同じ動物に脱イオン水を投与した。

結果を表1に示した。

手続補正四

表 1

試料	初期血圧 (mmHg)	最低血圧 (mmHg)	投与後の 時間(hr)	最低血圧時の血圧 低下度(mmHg)
実施例 1	193	155	8	-38
" 2	190	154	24	-36
" 3	201	160	8	-41
" 4	197	173	8	-24
" 5	197	175	8	-22
" 6	202	182	8	-20
" 7	205	177	8	-28
" 8	225	207	4	-18
" 9	216	191	24	-25
" 11	202	174	8	-28
" 12	204	159	24	-45
" 13	220	177	8	-43
" 14	199	175	8	-24
" 15	205	172	4	-33
" 16	194	173	8	-21
" 17	218	203	24	-15
" 18	224	211	24	-13
" 21	219	190	8	-29

昭和59年10月2日

特許庁長官 志賀 学 殿



1. 事件の表示

昭和59年特許願第 176355 号

2. 発明の名称 アミノ酸誘導体およびこれを含有する降圧剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都中央区京橋一丁目 5番 8号

名称 (006) 味の素株式会社

代表者 取締役社長 歌田勝弘



4. 補正命令の日付 自発

5. 補正により増加する発明の数 なし



6. 補正の対象 明細書の発明の詳細な説明の欄

7. 補正内容

明細書、発明の詳細な説明の欄を下記のとおり訂正する。

- 第14頁、第6行の「アミノ酸」を「アミノ基」と訂正する。
- 第20頁、第5行、第8行および第12行の「N-」をそれぞれ「N」と訂正する。
- 第21頁、下から第9行の「プロリン」の後に「L-アルギニン塩」を加入する。
- 第22頁、第3行および第11行の「ウレア-」をそれぞれ「ウレア」と訂正する。
- 第22頁、第5行、第6行、第9行および第12~13行の「N-」をそれぞれ「N」と訂正する。
- 第22頁、下から第2~1行の「フェニルプロピオニル」を「(3-フェニルプロピオニル)」と訂正する。
- 第23頁、下から第8行の「プロリン-」を「プロリン」と訂正する。
- 第23頁、下から第4行の「とし」を「をし」と訂正する。

9. 第23頁、下から第4~1行の「から、…目的的」を「の水(50ml)溶液に溶解し、凍結乾燥することにより、」と訂正する。

10. 第24頁、第2行の「プロリン-」を「プロリン」と訂正する。

11. 第36頁、下から第6行の「の合成」を削除する。

12. 第38頁、第4行、第10行、第15行および第16行の「プロリン-」をそれぞれ「プロリン」と訂正する。

13. 第38頁、第4行の「の調製」を削除する。

14. 第39頁、第8行および第15行の「プロリン-」をそれぞれ「プロリン」と訂正する。

15. 第41頁、第12行の「減圧下」を「減圧下に」と訂正する。

16. 第42頁、下から第6行の「再結」を「再結晶」と訂正する。

17. 第44頁、第12行および下から第2行の「プロリン-」をそれぞれ「プロリン」と訂正する。

18. 第46頁、第2行の「プロリン・」を「プロリン」と訂正する。
19. 第46頁、第5行の「の合成」を削除する。
20. 第46頁、第11行の「一晩…白い結」を「一夜搅拌したところ、白色結」と訂正する。
21. 第47頁、下から第8行および下から第1行の「プロリン・」をそれぞれ「プロリン」と訂正する。
22. 第47頁、下から第4～3行の「とレーアルギニン…目的の」を「をレーアルギニン0.433g (2.49ミリモル) の水(50ml) 溶液に溶解し、凍結乾燥することにより」と訂正する。
23. 第48頁、第2行の「プロリン・」を「プロリン」と訂正する。
24. 第48頁、第5行の「の合成」を削除する。
25. 第48頁、第7行の「レフェニル」を「フェニル」と訂正する。
26. 第48頁、下から第8行の「エーテルに」を「エーテルを」と訂正する。
27. 第49頁、第7行および下から第7行の「プロリン・」をそれぞれ「プロリン」と訂正する。
28. 第49頁、第11～12行の「とL-アルギニン…目的の」を「をL-アルギニン0.433g (2.49ミリモル) の水(50ml) 溶液に溶解し、凍結乾燥することにより、」と訂正する。
29. 第52頁、第1行の「メタノール」の後に、「50ml」を加入する。
30. 第56頁、第4行の「9.99ミリモル」を「10ミリモル」と訂正する。
31. 第56頁、第5行および第9行の「Zeolite」を「モレキュラーシーブス」と訂正する。
32. 第57頁、第8行の「9.99ミリモル」を「10ミリモル」と訂正する。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)